
**MUTAGÉNESIS SITIO DIRIGIDA DE UN RESIDUO CONSERVADO DE LA
ENZIMA ALCOHOL ACIL TRANSFERASA (VPAAT1) Y EL ROL QUE CUMPLE
EN LA BIOSINTESIS DE ESTERES VOLATILES**

**MARIA XIMENA NÚÑEZ T.
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MEDICA**

RESUMEN

La papaya de montaña (*Vasconcellea pubescens*) posee un aroma muy característico, compuesto principalmente por ésteres. La reacción de esterificación es catalizada por la enzima alcohol aciltransferasa (VpAAT1) la cual es miembro de la familia BAHD, que transfieren un acil-CoA a un alcohol. Para obtener una perspectiva sobre el mecanismo de acción de VpAAT1, se utilizó la metodología de modelamiento comparativo para construir la estructura de la enzima. La estructura de la enzima VpAAT1 mostró dos dominios conectados por un loop, con un canal de solvente en el centro de la estructura, los dos residuos H166 y D170 que se describen como importantes para la acción catalítica, presentan sus cadenas laterales hacia la cavidad central del canal, permitiendo su interacción con los sustratos. Para evaluar si esto es realmente así, se realizó primeramente la mutación in silico del residuo de D170E, donde se observaron cambios significativos en la energía de interacción proteína-ligando y la orientación en el canal de solvente de los sustratos, de modo que la energía se torna desfavorables al interactuar los ligandos con la proteína mutante. Así mismo, estudios cinéticos sobre la enzima nativa, mostraron que existe una diferencia en los niveles de afinidad entre los distintos ligandos, tanto alcoholes como el ligando acetil-CoA, siendo este último el más favorable para la enzima, por sobre los alcoholes, esto es posible determinarlo debido a que este sustrato posee una menor K_M . A modo de corroborar estos estudios in silico se evaluó de manera in vitro la mutación del residuo D170E. Los resultados de este estudio mostraron una pérdida total de la actividad, observándose una correlación con los datos bioinformáticos descritos previamente, además de confirmar el papel funcional del residuo durante la catálisis de VpAAT1, y la producción de ésteres, los cuales son componentes importantes del aroma en el fruto de papaya de montaña.